



锰过氧化物酶 (Mnp) 活性检测试剂盒

Manganese Peroxidase (Mnp) Activity Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



锰过氧化物酶 (Mnp) 活性检测试剂盒

Manganese Peroxidase (Mnp) Activity Assay Kit

一、产品描述

锰过氧化物酶 (Mnp) 是一种含铁血红素的糖基化过氧化物酶，是木质素降解过程中的关键酶，并具有氧化降解芳香族化合物的能力，能够有效降解木质素及废水和土壤中难降解的氯化物、叠氮化合物、DTT 和多环芳烃等，在纸浆的酶法漂白、农业废弃物的处理、有机污染物的降解和环境的生物修复等方面具有广泛应用。

锰过氧化物酶在 Mn^{2+} 存在的条件下，能够将愈创木酚氧化为四邻甲氧基连酚，产物在 465 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化即可表征锰过氧化物酶的活性。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用说明及注意事项
试剂一	液体 120 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂二	液体 3 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂三	液体 6 mL×1 瓶	4°C 避光保存	-
试剂四	液体 50 μ L×1 支	4°C 避光保存	使用蒸馏水稀释 100 倍即为试剂四应用液 (根据使用量现用现配，配置后 4°C 可保存 1 周)

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿（光径 10 mm）/96 孔板、研钵/匀浆器、可调式移液器/多道移液器、台式离心机、恒温水浴和蒸馏水。

1. 粗酶液的制备（可根据预实验结果适当调整样本量及比例）

①组织：按照质量 (g)：试剂一体积 (mL) 为 1：(5-10) 的比例（建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 试剂一）处理样品，冰浴匀浆，4°C 10000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

②细菌或细胞：离心收集细菌或细胞至离心管内，按照细菌或细胞数量(10^4 个)：试剂一体积(mL) 为 (500-1000)：1 的比例（建议 500 万细菌或细胞加入 1 mL 试剂一）处理样品，冰浴超声破碎（功率 300 W，超声 3 s，间隔 7 s，总时间 3 min），4°C 10000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

③培养液等液体样本：直接检测或适当稀释后再进行检测。

2.测定步骤

①分光光度计或酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 465 nm，蒸馏水调零。

②试验前将试剂一、试剂二、试剂三、试剂四应用液置于 37℃（哺乳动物）或 25℃（其它物种）预热 15 min 以上。

③在 96 孔板或微量玻璃比色皿中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 (μL)
粗酶液	20
试剂一	100
试剂二	20
试剂三	40
试剂四应用液	20

吸光值测定：①充分混匀并立即开始计时，测定 30 s（总时间）时 465 nm 处吸光值，记为 A1；

②准确反应 120 s，测定 150 s（总时间）时 465 nm 处吸光值，记为 A2；③计算 $\Delta A = A2 - A1$ 。

3.锰过氧化物酶（Mnp）活性计算

3.1 使用 96 孔板测定的计算公式

①按组织蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟氧化 1 nmol 愈创木酚所需的酶量定义为一个酶活力单位。

$$\text{Mnp (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_1 \times V_{\text{样}} \times \text{Cpr} \times T} = \frac{826.45 \times \Delta A}{\text{Cpr}}$$

②按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织每分钟氧化 1 nmol 愈创木酚所需的酶量定义为一个酶活力单位。

$$\text{Mnp (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_1 \times V_{\text{样}} \times W \times T} = \frac{826.45 \times \Delta A}{W}$$

③按细菌或细胞数量计算

单位定义：每 10^4 个细菌/细胞每分钟氧化 1 nmol 愈创木酚所需的酶量定义为一个酶活力单位。

$$\text{Mnp (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_1 \times V_{\text{样}} \times \text{细菌或细胞数量} \times T} = \frac{826.45 \times \Delta A}{\text{细菌或细胞数量}}$$

④按液体样本体积计算

单位定义：每 mL 液体样本每分钟氧化 1 nmol 愈创木酚所需的酶量定义为一个酶活力单位。

$$\text{Mnp (U/mL)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_1 \times V_{\text{样}} \times T} = 826.45 \times \Delta A$$

3.2 使用微量玻璃比色皿测定的计算公式

①按组织蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟氧化 1 nmol 愈创木酚所需的酶量定义为一个酶活力单位。

$$\text{Mnp (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_2 \times V_{\text{样}} \times \text{Cpr} \times T} = \frac{413.22 \times \Delta A}{\text{Cpr}}$$

②按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织每分钟氧化 1 nmol 愈创木酚所需的酶量定义为一个酶活力单位。

$$\text{Mnp (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_2 \times V_{\text{样}} \times W \times T} = \frac{413.22 \times \Delta A}{W}$$

③按细菌或细胞数量计算

单位定义：每 10⁴ 个细菌/细胞每分钟氧化 1 nmol 愈创木酚所需的酶量定义为一个酶活力单位。

$$\text{Mnp (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_2 \times V_{\text{样}} \times \text{细菌或细胞数量} \times T} = \frac{413.22 \times \Delta A}{\text{细菌或细胞数量}}$$

④按液体样本体积计算

单位定义：每 mL 液体样本每分钟氧化 1 nmol 愈创木酚所需的酶量定义为一个酶活力单位。

$$\text{Mnp (U/mL)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_2 \times V_{\text{样}} \times T} = 413.22 \times \Delta A$$

注释： V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，20 μL=0.02 mL；V 样总：粗酶液总体积，1 mL；V 反总：反应总体积，2×10⁻⁴ L；ε：愈创木酚摩尔消光系数：12100 L/mol/cm；d₁：96 孔板光径，0.5 cm；d₂：微量玻璃比色皿光径，1 cm；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；细菌或细胞数量：以万计；T：反应时间，2 min。

四、注意事项

①可根据使用量按试剂一：试剂二：试剂三：试剂四应用液=5:1:2:1 的体积比配制为 Mnp 检测工作液（现用现配），37℃（哺乳动物）或 25℃（其它物种）预热 15 min，在 96 孔板或微量玻璃比色皿中加入 20 μL 粗酶液和 180 μL Mnp 检测工作液进行后续测定；

②准确在 30 s 和 150 s 处完成吸光值测定，以保证结果准确性和重复性；若使用 96 孔板应使用多道移液器且分批进行检测，以确保组间反应时间一致；

③为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedure.

